Vergleichende biochemische und immunologische Studien an normalen und maligne entarteten Geweben

Gegenüberstellung der Analysen eines normalen Nierenparenchymextraktes und des Homogenats eines Hypernephroms

von

Christian Kahlert

aus Chemnitz

1966

1967 № 108

Aus der Abteilung für klinische Immunologie des Universitätskrankenhauses der Universität Erlangen-Nürnberg
Vorstand: Professor Dr. med. F. Scheiffarth

Vergleichende biochemische und immunologische Studien an normalen und maligne entarteten Geweben

Gegenüberstellung der Analysen eines normalen Nierenparenchymextraktes und des Homogenats eines Hypernephroms

INAUGURAL - DISSERTATION
zur
ERLANGUNG DER DOKTORWÜRDE
der
HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
der
FRIEDRICH - ALEXANDER - UNIVERSITÄT
zu
ERLANGEN - NÜRNBERG

Vorgelegt von
Christian Kahlert
aus Chemnitz

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät
der Universität Erlangen-Nürnberg

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Referent: Prof. Dr. med. F. Scheiffarth
Dekan: Prof. Dr. med. K.-G. Ober
Tag der mündlichen Prüfung: 17. 12. 1966

MEINEM VATER IN

DANKBARKEIT GEWIDMET

Inhaltsübersicht

EINLEITUNG 2

TIEREXPERIMENTELLE UND LABORATORIUMSUNTERSUCHUNGEN

I. Untersuchungsgut 3
II. Versuchsanordnung 3
III. Methodik
a) Gewinnung der Extrakte 4
b) Herstellung der Organantiseren 5
c) Herstellung der bereinigten Antiseren 7
d) Komb. agar- u. biochemische Untersuchungen 7
e) Immunologische Methoden 9
f) Papierelektrophorese 10

ERGEBNISSE

I. Agarelektrophoret. u. biochemische Ergebnisse
1. Proteine 11
2. Kohlenhydrate 12
3. Lipoproteide 12
4. Esterasen 13
5. Laktatdehydrogenase 14
6. Amylase 14
7. Peroxydase 15
8. Alkalische Phosphatase 15
9. Oxydase 16

II. Immunologische Ergebnisse
1. Zweidimens. Immunodiffusion n. OUCHTERLONY 23
2. Immunoelektrophorese n. GRABAR u. WILLIAMS 23

III. Serumeiweißbefunde bei immunisierten Kaninchen 28

DISKUSSION 32

ZUSAMMENFASSUNG 37

LITERATURVERZEICHNIS 38

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41535725_0088

E I N L E I T U N G

In Fortführung biochemischer und immunologischer Studien an Extrakten aus Karzinomgeweben und dem jeweils umgebenden normalen Parenchym zur Klärung der Frage nach einem Malignitätskriterium des entarteten Zellverbandes (6, 11, 17, 20, 21, 22) sollen in vorliegender Arbeit die Untersuchungsergebnisse von Hypernephrompräparaten im Vergleich zu normalem Nierengewebe dargelegt werden.

Die mit Hilfe papier- und agarelektrophoretischer wie auch immunologischer Methoden durchgeführten Analysen an menschlichen Extrakten, die sowohl aus malignen Tumoren als auch aus deren dazugehörigen histologisch unveränderten Muttergeweben hergestellt wurden, erscheinen insofern von Interesse, als die Möglichkeit einer allgemeinen biochemischen bzw. immunologischen Charakterisierung maligne entarteter Gewebe, und zwar unabhängig von ihrer ursprünglichen Organherkunft, einer sorgfältigen Prüfung bedarf. Insbesondere soll geklärt werden, ob ein proteingebundener Faktor, der entweder an eine bestimmte Fraktion gekoppelt oder durch spezifische Antigenität imponiert, ubiquitär in allen malignen Neoplasmen nachweisbar ist und somit diagnostische Bedeutung erlangen könnte.

TIEREXPERIMENTELLE UND LABORATORIUMSUNTERSUCHUNGEN

I. Untersuchungsgut

Es wurden die gepoolten Extrakte von vier operativ entfernten und histologisch gesicherten Hypernephrompräparaten sowie die ebenfalls gepoolten Homogenate des histologisch unauffälligen Nierengewebes derselben frisch resezierten Organe untersucht.[+)] Bei den Hypernephromen handelte es sich jeweils um etwa mandarinengroße Tumoren, die in den meisten Fällen einen Einbruch ins Nierenbecken zeigten, gegen das umgebende normale Nierenparenchym jedoch gut abgrenzbar und somit leicht zu präparieren waren. Die Gewebe kamen unmittelbar p. op. zur Verarbeitung.

II. Versuchsanordnung

Die gewonnenen Extrakte wurden in folgender Weise analysiert:

1. Agarelektrophoretische Auftrennung mit anschließender Darstellung einzelner färberisch und durch Fermentreaktionen charakterisierbarer Komponenten.

+) Die frischen Organpräparate verdanken wir der Urologischen Abt. (Prof. Dr. Sigel) der Chirurg. Universitätsklinik Erlangen (Vorstand: Prof. Dr. Hegemann) bzw. der Urologischen Klinik der Stadt Nürnberg (Vorstand: Prof. Dr. Thiermann †).
Die histologische Diagnostik wurde freundlicherweise vom Patholog. Institut der Universität Erlangen-Nürnberg (Vorstand: Prof. Dr. Müller) bzw. vom Patholog. Institut (Vorstand: Prof. Dr. Plies) der Städt. Krankenanstalten Nürnberg übernommen.

2. Immunologische Differenzierung durch zweidimensionale Immunodiffusion nach OUCHTERLONY und durch Immunoelektrophorese nach GRABAR und WILLIAMS, wobei ein Antihumanserum, ferner die durch Sensibilisierung von Kaninchen selbst hergestellten spezifischen Anti-Extrakt-Seren und schließlich die jeweils mit dem konträren Antigen absorbierten Antiseren Verwendung fanden.

3. Einfache Papierelektrophorese der Organextrakte wie auch der einzelnen zu verschiedenen Zeitpunkten nach Beginn der Sensibilisierung entnommenen Anti-Extrakt-Seren vom Kaninchen.

III. Methodik

a) Gewinnung der Extrakte

Bei den zur Aufbereitung kommenden Organpräparaten wurde zunächst der stets recht gut abgekapselte Nierentumor aus dem umgebenden gesunden Nierengewebe sorgfältig herauspräpariert. Die so erhaltenen Gewebsstücke wurden anschließend von Fett und Bindegewebe weitgehend befreit und danach - in je nach Gewebsart getrennten Arbeitsgängen - grob zerkleinert und zur Entblutung etwa drei Stunden in fließendem Wasser gespült. Die genügend entbluteten Gewebsstückchen wurden weiter im Multimix zertrümmert

und mit dem Ultra-Turrax-Zerstäuber [+)] nach Zugabe von physiologischer NaCl-Lösung im Verhältnis 1 : 4 mehrfach kurzfristig in einem Eismantel homogenisiert und schließlich 20 Minuten bei 15 000 U/min in der Kühlzentrifuge zentrifugiert. Der Überstand des Zentrifugats wurde abpipettiert und gegen 20 %iges Kollidon in Dialysiermembranschläuchen [++)] 24 Stunden lang bei + 4° C auf eine 2 - 3 g%ige Eiweißlösung eingeengt.
Die so gewonnenen Organextrakte bildeten das Substrat für die Analysen.

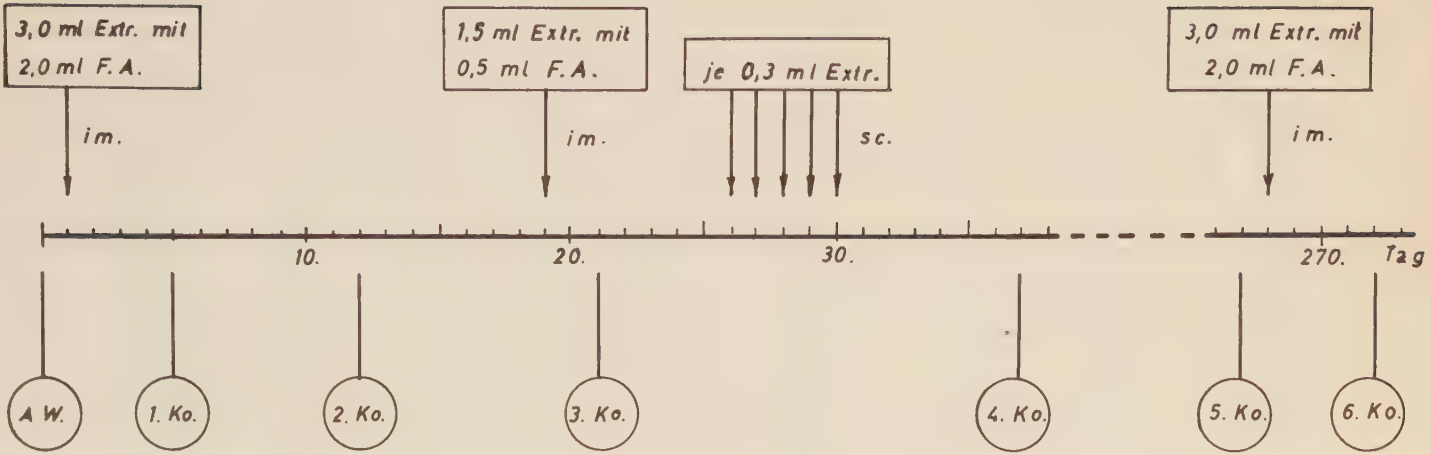
b) Herstellung der Organantiseren

Die Gewinnung der sowohl für die immunologischen Untersuchungen als auch für die papierelektrophoretischen Verlaufskontrollen benötigten Normalseren und Antiseren erfolgte durch Sensibilisierung von Kaninchen mit Hilfe subkutaner bzw. intramuskulärer Injektion und Reinjektionen des Nierenparenchym- bzw. Hypernephromextraktes unter Verwendung von FREUND-schem Adjuvans nach folgendem Schema: Abb. 1

[+)] Fa. Janke u. Kunkel KG., Staufen i. Br.

[++)] Fa. Membranfiltergesellschaft, Göttingen

SENSIBILISIERUNGSPLAN



AW. = Ausgangswert

Ko. = Kontrolluntersuchung

Extr. = Organextrakt

F.A. = FREUNDsches Adjuvans

Abb. 1

c) Herstellung der bereinigten Antiseren

Es wurden jeweils 1 ml Antinormalserum bzw. Antitumorserum mit 0,07 - 0,10 ml des konträren Extraktes versetzt und zwei Stunden bei 37° C inkubiert. Der nach dem anschließenden Zentrifugieren abpipettierte Überstand bildete dann bei den Absorptionsversuchen das für die Immunoelektrophorese bzw. die zweidimensionale Immunodiffusion verwendete 'bereinigte Antiserum'.

d) Kombinierte agarelektrophoretische und biochemische Untersuchungen

Für die A g a r e l e k t r o p h o r e s e wurde Agar-Agar in der typischen Weise nach GRABAR und WILLIAMS (2, 6, 7, 8, 9) aus 1,5 - 2 %iger Lösung von DIFICO-Agar und MICHAELIS-Puffer mit pH 8,6 und Ionenstärke 0,05 bereitet. Nach Abnutschen des flüssigen Agars durch ein Nylonfilter konnten die vorbereiteten Glasplatten mit den Abmessungen 4 x 10 cm mit je 8 ml des heißen Agarsols beschickt werden. Hernach wurden in das erstarrte Agargel etwa in der Mitte der Platten zwei als Antigenreservoire dienende Vertiefungen in der Größe von je 2 x 10 mm ausgestanzt. Diese Auftragestellen wurden anschließend mit einer Mischung aus Organextrakt und Agarsol im Verhältnis 1 : 2 bis zum Rand gefüllt und mit blankem Elektro-

phoreseagar überschichtet. Bei einigen Platten wurde zwischen beide Proben zum Vergleich punktförmig ein Serum mit angesetzt. Die Dauer des Trennvorganges betrug bei sechs Doppelsätzen und einer über puffergetränkte Papierstreifen angelegten Gleichspannung von 90 V in der Regel 1 - 2 Stunden.

Für die Protein-, Glyko- und Lipoproteidfärbungen wurden die Platten nach Beendigung der Elektrophorese zur Fixierung der getrennten Proteinkomponenten in 2 %ige Essigsäure gelegt, während die Platten für die Fermentreaktionen unverzüglich mit den entsprechenden Inkubationslösungen behandelt wurden.

Folgende Färbungen wurden durchgeführt:

1. Proteinfärbung mit Amidoschwarz 10 B bzw. mit Azokarmin G (2, 4, 8, 28)
2. Glykoproteidfärbung mit SCHIFFschem Reagenz (8,28,29)
3. Lipoproteidfärbung mit Sudanschwarz B (4, 8, 28)
4. Fermentreaktionen zum Nachweis der Esterasen durch die Ester des Indoxylazetats wie auch des ß-Naphthylazetats (8)
5. Fermentnachweis der Laktatdehydrogenase (LDH) (16,30)
6. Fermentreaktion zum Nachweis amylaseaktiver Komponenten (18)
7. Fermentreaktion zum Nachweis der Peroxydase (8, 20)
8. Fermentreaktion zum Nachweis der alkalischen Phos-

phatase. (4, 23)

9. Fermentreaktion zum Nachweis der Oxydase. (4, 19, 27)

e) Immunologische Methoden

1. Zweidimensionale Immunodiffusion nach OUCHTERLONY

Diagläschen mit den Abmessungen 5 x 5 cm sowie Petrischalen mit einem Durchmesser von 9 cm wurden mit 3 ml bzw. 10 ml heißem Elektrophoreseagar beschickt. Nach Übergang des flüssigen Agars in den Gelzustand wurden zur Aufnahme des Antigengemisches Vertiefungen mit je nach Versuchsreihe unterschiedlicher Größe (ø 0,1 cm bzw 0,6 cm) ausgestanzt und mit den Organextrakten bzw. den spezifischen Antiseren oder einem Antihumanserum bis zum Rande gefüllt. Die Versuchsanordnung wurde so gewählt, daß je ein Antigen-Antiköper-System des Normal- und des Karzinomextraktes sich gegenüberstand und verglichen werden konnte.

Immunoelektrophorese nach GRABAR und WILLIAMS

Die Extrakte aus dem normalen als auch aus dem maligne entarteten Nierengewebe wurden mit Hilfe der Immunoelektrophorese untersucht und zwar jeweils gegen ein Antihumanserum, Anti-Nieren-Serum und Anti-Hypernephrom-Serum.
Schließlich wurden im Kreuzversuch die verschie-

denen von konträren Antigenen bereinigten Antiseren immunoelektrophoretisch analysiert.

f) Papierelektrophorese

Die zu verschiedenen Zeitpunkten gewonnenen und zur spezifischen Extrakt-Antikörper-Bildung sensibilisierten Kaninchenseren sowie auch die Organextrakte selbst wurden papierelektrophoretisch aufgetrennt und anschließend der Proteinfärbung mit Amidoschwarz 10 B unterworfen.
Hinsichtlich der methodischen Einzelheiten wurden die hinlänglich bekannten Angaben von GRASSMANN und HANNIG zugrunde gelegt.+) (10)

+) Als Ausrüstung dienten Kammer- und Speisegerät der Fa. Bender u. Hobein, München.

E R G E B N I S S E

I. Agarelektrophoretische und biochemische Ergebnisse

1. Proteine

Bei Färbung der agarelektrophoretisch aufgetrennten Fraktionen mit A m i d o s c h w a r z 1 0 B (Abb. 2 a) als auch mit A z o k a r m i n G (Abb. 2 b) konnten im Homogenat des histologisch für normal befundenen Nierengewebes insgesamt bis zu elf Proteinsysteme differenziert werden. Verglichen mit den Komponenten eines menschlichen Serums ließen sich aus dem Nierenextrakt eine Fraktion mit der Wanderungsgeschwindigkeit eines Albumins, zwei Komplexe im Bereich von α_1- bzw. α_2-Globulinen, eine relativ breitbasige β_1-Globulinfraktion und eine in sich wenig differenzierte Zone mit Proteinen vom Typ der γ-Globuline erkennen. Darüber hinaus zeigten sich weit im Anodischen, also im Präalbuminbereich, drei gut gegeneinander abgrenzbare Banden, von welchen die am weitesten gewanderte am schärfsten in Erscheinung trat. Außerdem ließ sich im β_2-Bereich eine schmalbasige Komponente gegen die β_1-Globuline wie auch gegen die γ-Globuline abgrenzen. Schließlich wurde in einer Reihe von Einzelanalysen auch im Post-γ-Globulinbereich, d. h. in einer Zone, die am weitesten kathodisch des Trennbereiches gelegen ist, eine schwach gefärbte Proteinfraktion sichtbar.

Im Vergleich zu den Proteinsystemen eines normalen Nierengewebes erschienen die Komponenten der Homogenate der untersuchten Tumoren weniger differenziert. Insbesondere wurden die Albuminvorfraktionen wie auch die mehrfach beobachtete Post-γ-Globulinfraktion vermißt. Auffällig dagegen waren eine relativ breite α_2-Fraktion sowie eine scharf begrenzte und deutlich angefärbte Proteinkomponente im $ß_2$-Bereich.

2. Kohlenhydrate

Die Behandlung mit Perjodsäure und SCHIFFschem Reagenz (Abb. 3) ergab beim normalen Nierenextrakt eine schwache Anfärbung einer der Albuminvorfraktionen, eine stärkere Farbreaktion der anodisch gewanderten Proteinsysteme aber auch der ß- und γ-Globuline sowie schlielich eine intensive Rotfärbung der Auftragestelle.
Im Tumorextrakt ließen sich keine Besonderheiten gegenüber dem Normalextrakt herausstellen, wenn man davon absieht, daß die Vorfraktion nicht nachweisbar war.

3. Lipoproteide

Die Farbreaktionen mit Sudanschwarz B (Abb. 6) waren bei den verschiedenen Analysensätzen inkonstant. Mit ziemlicher Regelmäßigkeit ließen sich im Nierenparenchymextrakt eine schwache Färbung in der Zone der Präalbumine, eine ebensolche an der Stelle von α_1-Globulinen und eine intensive Farbreaktion an der Auftrage-

stelle nachweisen.

Im Hypernephromextrakt war in allen Fällen nur die Auftragestelle relativ deutlich. Stärkere Fraktionen waren somit nicht darstellbar.

4. Esterasen

a) Mit I n d o x y l a z e t a t (Abb. 4) ließen sich sowohl im normalen Nierengewebsextrakt als auch im Hypernephromextrakt insgesamt je vier Farbkomplexe nachweisen: Unter ihnen waren zwei Komponenten im Albumin/α_1-Globulinbereich, eine im α_2-Globulinbereich sowie eine breite Zone mit vermutlich weiteren Subfraktionen im Bereich der ß/γ-Globuline zu differenzieren. An besonderer Intensität imponierte vor allem die breitbasige Farbzone im ß/γ-Globulinbereich. Im Tumorextrakt war diese Zone weniger deutlich angefärbt als im Normalextrakt.

b) Mit ß - N a p h t h y l a z e t a t (Abb. 5 a und 5 b) konnten im normalen Nierenextrakt vier bis fünf Farbzonen differenziert werden, von welchen eine im Präalbumin- (Abb. 5 b), eine weitere im Albumin/α-Globulinbereich sowie ein Komplex in der Zone der ß/γ-Globuline nachweisbar waren.

Im Tumorextrakt wurde demgegenüber die Präalbuminkomponente vermißt; alle anderen Farbzonen verhielten sich analog dem Nierenextrakt.

5. Laktatdehydrogenase

LDH-Aktivität ließ sich aufgrund der Farbreaktionen nach VAN DER HELM (Abb. 7 a und 7 b) im normalen Nierenextrakt an mindestens vier Isoenzyme gebunden nachweisen. Unter ihnen imponierten an Intensität besonders zwei im anodisch gewanderten Bereich als LDH-I sowie LDH-II; eine dritte zeigte sich um die Auftragestelle und gering kathodisch von ihr (LDH -III), und die vierte ließ sich als extrem schwache schmalbasige Reaktionszone im Bereich der $ß_2$-Globuline (LDH-IV) darstellen.

Im Tumor fanden sich bei den durchgeführten Analysen regelmäßig zwei Farbzonen, die eine, ziemlich breitbasig und in Einzelfällen nochmals unterteilt, in einem Bereich, der der LDH-II des Serums entsprechen könnte, die zweite als schmalbasige Komponente im umschriebenen γ-Globulinbereich (LDH-V).

6. Amylase

Amylaseaktivität konnte sowohl im normalen Nieren- als auch im Hypernephromextrakt (Abb. 8) gleichermaßen als verhältnismäßig breite aber nicht differenzierbare Zone in einem Bereich der $ß_2/\gamma$-Globuline nachgewiesen werden. Auffallende Intensitätsunterschiede zwischen beiden Extrakten ergaben sich nicht.

7. Peroxydase

Die mit Benzidin erfaßbare Peroxydaseaktivität (Abb. 9 a und 9 b) ergab im Nierenextrakt bis zu sechs Fraktionen, wobei drei schwache aber doch gegeneinander scharf abgrenzbare Komponenten im Präalbuminbereich, eine Fraktion mit der Wanderungsgeschwindigkeit des Albumins, eine weitere anstelle vom α_2-Globulin und schließlich eine Zone um β_1-Globulin nachweibar waren.

Der Tumorextrakt zeigte im allgemeinen eine Präalbuminfraktion, eine Komponente im Bereich von Albumin sowie einen Komplex, der sich vom Bereich der α-Globuline bis in die Zone der β_1-Fraktion erstreckte. Bei einigen Fällen fand sich eine Schlierenbildung, die sich mehr kathodisch verzog (β_2-Bereich).

8. Alkalische Phosphatase

Eine Aktivität der alkalischen Phosphatase (Abb. 10) war im Nierenextrakt lediglich an der Auftragestelle nachzuweisen.

Im Tumorhomogenat konnte außer an der Auftragestelle auch in einem Bereich der α_2-Globuline, d. h. unmittelbar anodisch vor dem Start eine schwache Farbreaktion gefunden werden.

9. Oxydase

Oxydaseaktivität (Abb. 11) war in den Extrakten beider Gewebsarten im Bereich der Auftragestelle nachweisbar, außerdem im umschriebenen Bereich der α_2-Globuline. Im Tumor erschien diese Komponente etwas stärker angefärbt als im normalen Nierenparenchymextrakt.

DARSTELLUNG DER FÄRBERISCHEN ERGEBNISSE DER AGARELEKTROPHORETISCHEN AUFTRENNUNG VERSCHIEDENER WANDERUNGSFÄHIGER KOMPONENTEN EINES NORMALEN NIERENPARENCHYMEXTRAKTES IN GEGENÜBERSTELLUNG ZU DENEN DES HOMOGENATS EINES HYPERNEPHROMS

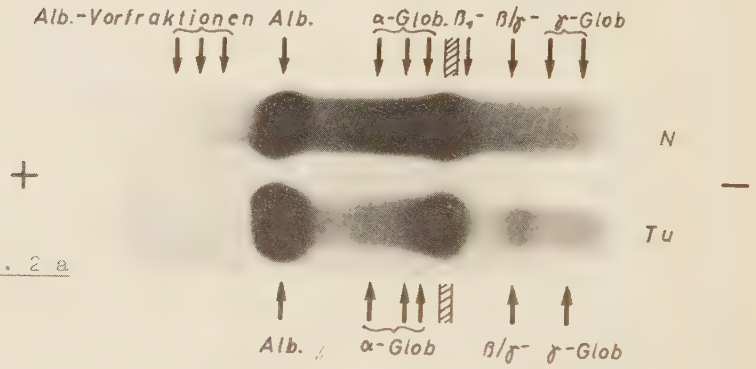


Abb. 2 a

Färbung der Proteinfraktionen mit Amidoschwarz 10 B. Man erkennt die große Anzahl von Proteinen wie auch den umfassenderen Trennbereich des Normalextraktes im Vergleich zum Tumorextrakt.

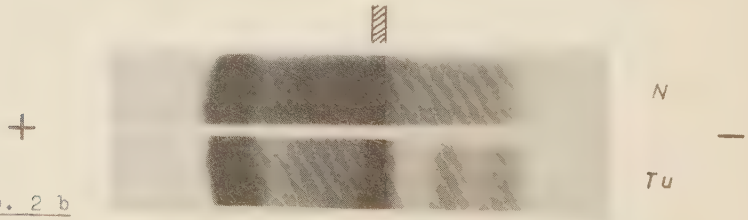


Abb. 2 b

Färbung der Proteinfraktionen mit Azokarmin G, die im wesentlichen die gleichen Ergebnisse wie mit Amidoschwarz erbrachte.

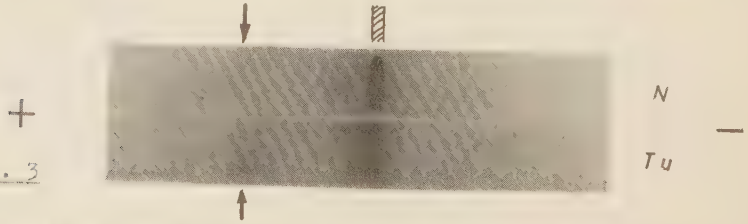


Abb. 3

Darstellung der Glykoproteine. Die intensive Tönung der Albuminfraktion des Tu-Extraktes ist durch einen Hämoglobin-Bilirubin-Komplex bedingt und entspricht somit nicht einer KH-Färbung mit dem verwendeten SCHIFFschen Reagenz.

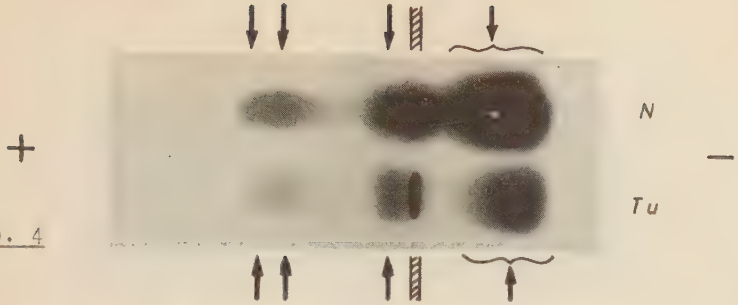


Abb. 4

Nachweis der mit Indoxylazetat darstellbaren (Cholin-)-Esterasen.

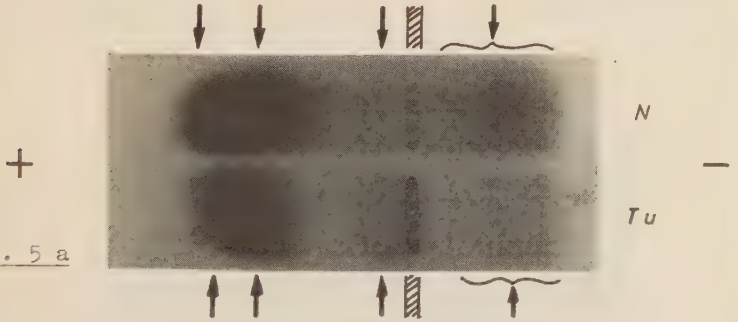


Abb. 5 a

Nachweis der mit ß-Naphthylazetat darstellbaren (Pseudo-)Esterasen.

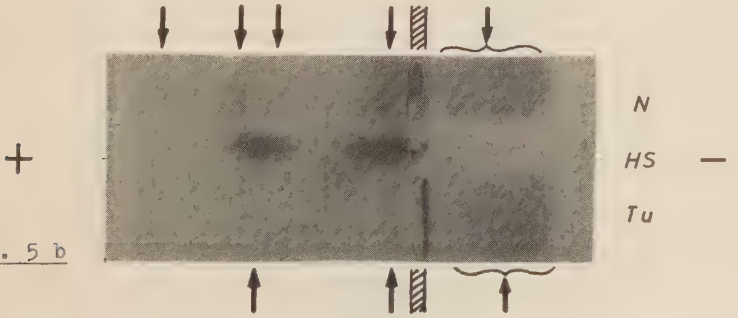


Abb. 5 b

Anfärbung der (Pseudo-)Esterasen bei stärkerer Verdünnung der Extrakte als in Abb. 5 a.

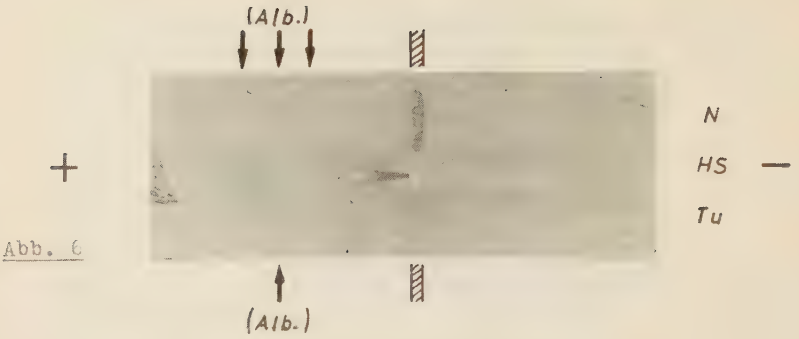


Abb. 6

Lipoproteidfärbung mit Sudanschwarz B.

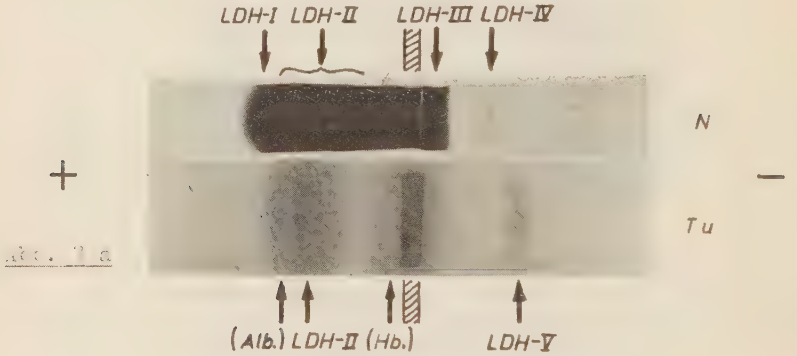


Abb. 7 a

Verteilung der Laktatdehydrogenase (Isoenzymnachweis nach VAN DER HELM). Man erkennt deutlich die unterschiedliche quantitative wie auch qualitative Verteilung der LDH-Isoenzyme in den verglichenen Extrakten.

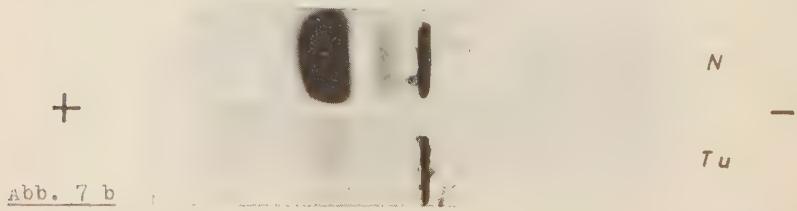
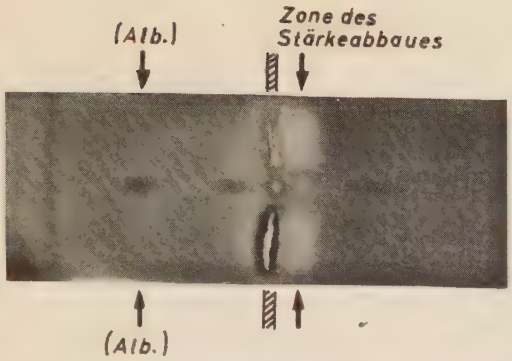


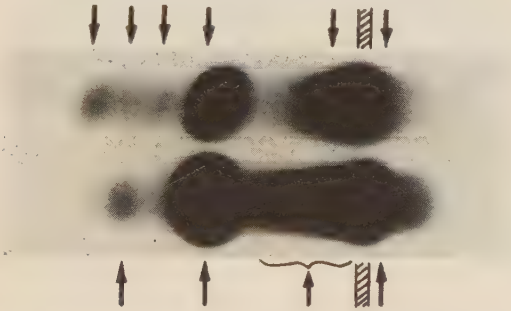
Abb. 7 b

LDH-Färbung nach VAN DER HELM bei stärkerer Verdünnung der Extrakte als in Abb. 7 a.



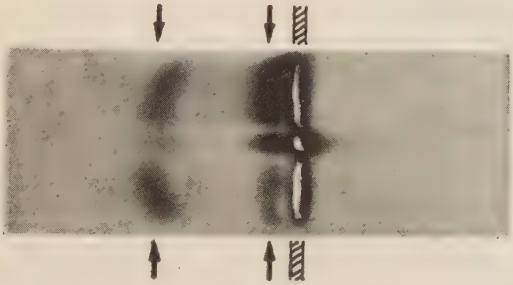
\+ — Abb. 8

Amylasenachweis. Es ergeben sich keine nennenswerten Unterschiede zwischen beiden Extrakten.



\+ — Abb. 9 a

Anfärbung der Peroxydase-aktiven Komponenten.



\+ — Abb. 9 b

Anfärbung der Peroxydase-aktiven Komponenten bei stärkerer Verdünnung der Extrakte als in Abb. 9 a.

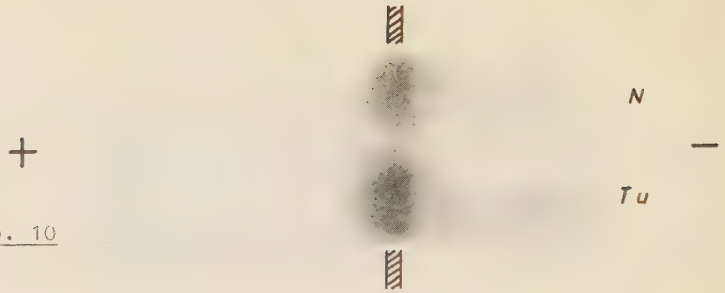


Abb. 10

Fermentnachweis der alkalischen Phosphatase.

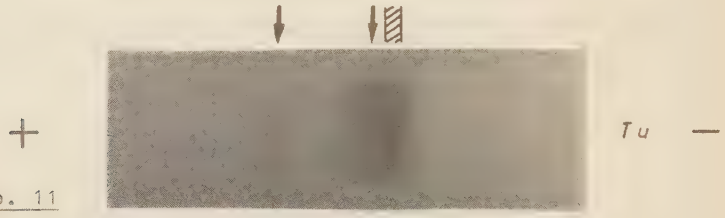


Abb. 11

Fermentnachweis der Oxydase (α_2-Coeruloplasmin) im Hypernephromextrakt.

Die Oxydaseaktivität im Normalextrakt zeigte das gleiche Ergebnis.

Z e i c h e n e r k l ä r u n g :

N	=	normaler Nierenparenchymextrakt
Tu	=	Hypernephromextrakt
HS	=	Humanserum
▨	=	Auftragestelle und Start
↓	=	Markierung der Proteinkomponenten bzw. der Fermentaktivitäten; in einigen Fällen kamen diese fotografisch nicht genügend zur Darstellung.

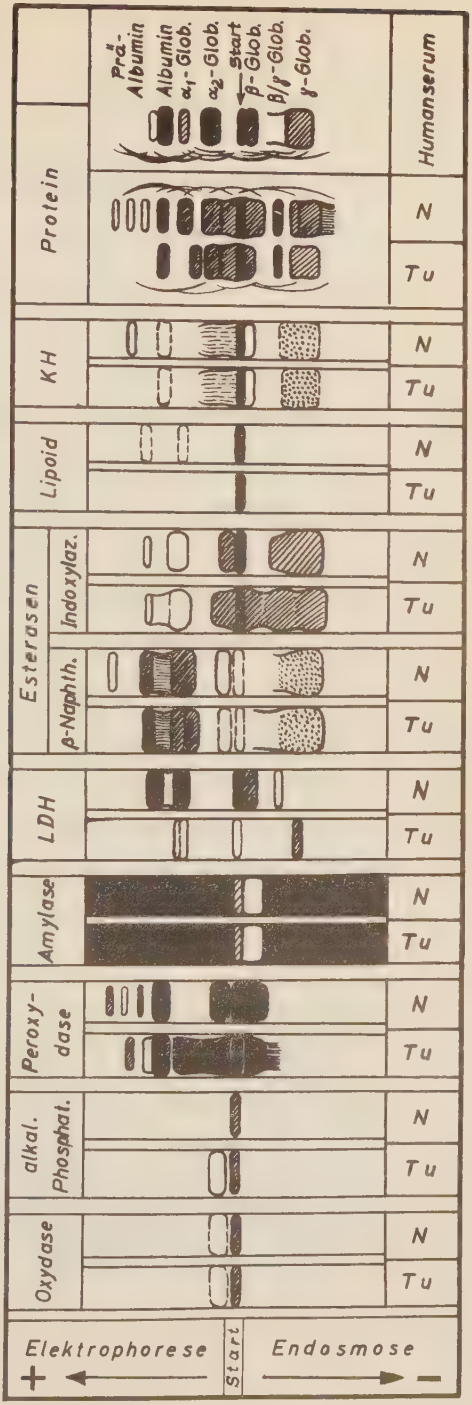


Abb. 12

Gesamtübersicht der nach Analyse der Extrakte aus normalem Nieren- bzw. Hypernephromgewebe durch agarelektrophoretische sowie kombinierte Farbreaktionen erzielten Ergebnisse in halbschematischer Darstellung.
Zum Vergleich wurden das agarelektrophoretische Trennergebnis der Serumeiweißkörper eines Gesunden wie auch die dazugehörigen jeweiligen immunoelektrophoretisch gewonnenen Präzipitationsmuster voranrestellt.

II. Immunologische Ergebnisse

1. Zweidimensionale Immunodiffusion nach OUCHTERLONY

Bei Ansatz der jeweils spezifischen Antigen-Antikörper-Systeme konnten zwischen dem Nierenparenchymextrakt und dem vom Kaninchen gewonnenen Antiserum bis zu acht Präzipitationslinien nachgewiesen werden.
Bei Analyse des Tumorextraktes fanden sich maximal sechs, zumeist aber fünf Systeme.
Beim Vergleich der Extrakte mit einem Humanserum stellten sich mit dem normalen Nierenextrakt sogar bis zu zehn Komponenten dar, während mit dem Tumorextrakt nur fünf Präzipitate sichtbar wurden.
Im K r e u z v e r s u c h konnte gezeigt werden, daß von den darstellbaren Proteinen des Hypernephromextraktes sich vier mit denjenigen des normalen Nierengewebes als identisch erwiesen, während die übrigen ein bis zwei Komponenten des Tumorextraktes mit den Systemen des Nierenparenchyms Kreuzungsphänomene entstehen ließen.

2. Immunoelektrophorese nach GRABAR und WILLIAMS

Die immunoelektrophoretische Analyse des normalen Nierenextraktes unter Verwendung des spezifischen Antiserums ergab eine Differenzierung dieses Extraktes in insgesamt elf Komponenten. Sie umfassen Proteine vom

Typ der Albumine, α_1/α_2-Globuline, der β_1-Fraktionen sowie der γ-Globuline. Auffällig dabei war die Anreicherung von α_2/β_1-Globulinen und eine Fraktion mit offenbar noch geringerer Wanderungsgeschwindigkeit als die der γ-Globuline.

Die immunoelektrophoretisch darstellbaren Systeme des Hypernephromextraktes unter Verwendung seines spezifischen Antiserums waren insgesamt quantitativ geringer; es konnten lediglich fünf beobachtet werden. Unter ihnen imponierten eine schwache Albuminfraktion, zwei Komponenten im α_1/α_2-Bereich, eine Fraktion mit der Wanderungsgeschwindigkeit von β_1-Globulinen sowie eine relativ stark ausgeprägte γ-Globulinfraktion.

Unter den im K r e u z v e r s u c h angesetzten Analysen, d. h. bei Diffusion eines Immunserums gegen das elektrophoretisch aufgetrennte konträre Antigen einschließlich des Humanserums als Vergleichsantigen, fiel folgendes Phänomen auf: Die Antikarzinomseren präzipitierten durchweg vorzugsweise die Fraktionen des β/γ-Globulinbereichs aus, während das Antinormalserum Albumin- und α-Fraktionen gleichermaßen auspräzipitierte.

Die A b s o r p t i o n s v e r s u c h e haben gezeigt, daß bei erschöpfender Absorption praktisch alle Proteinsysteme gegenseitig aufgehoben werden. Das bezieht sich sowohl auf die verglichenen Proteinsysteme

des normalen Nierengewebs- und Hypernephromextraktes als auch die vergleichenden Untersuchungen zwischen Nierenextrakt und menschlichem Serum einerseits wie auch Tumorhomogenat und menschlichem Serum andererseits,

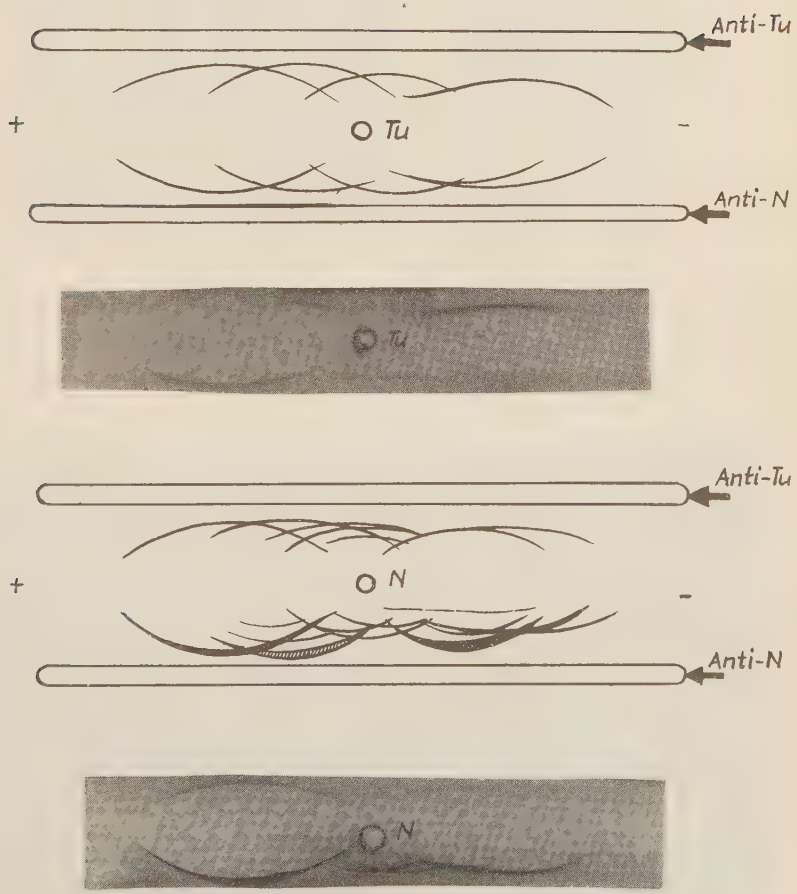
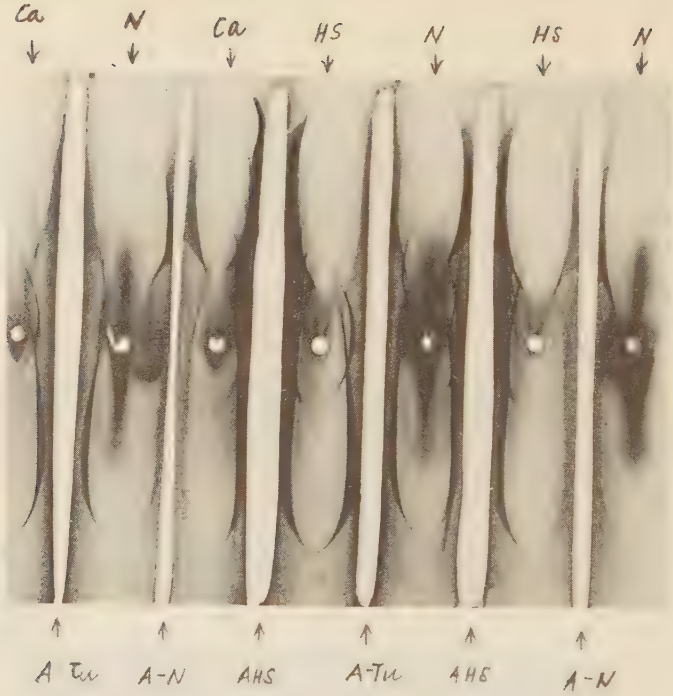
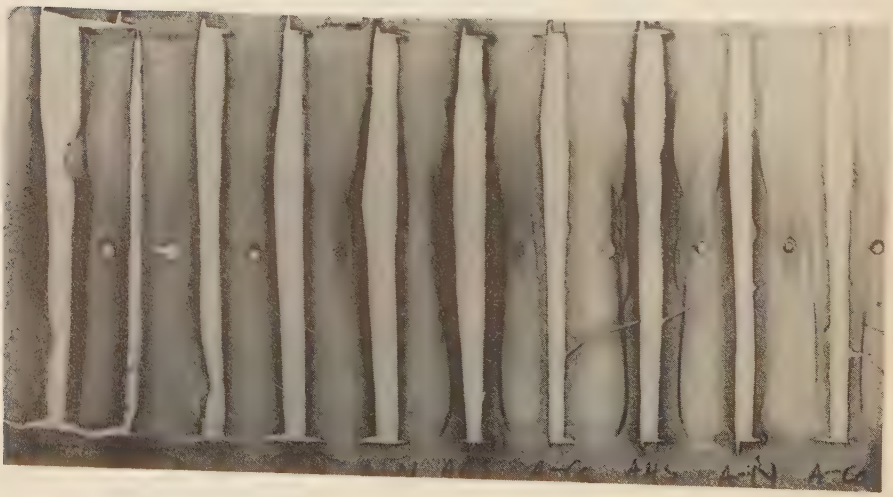


Abb. 13: Immunoelektrophoretische Analysen.


Ca
N
Ca
HS
N
HS
N
A Tu
A-N
AHS
A-Tu
AHS
A-N



III. Serumeiweißbefunde bei spezifisch immunisierten Kaninchen (Tab. 1 und 2)

Die Ausgangswerte der papierelektrophoretisch differenzierten Serumeiweißköper der für die spezifische Immunserumgewinnung herangezogenen Kaninchen ergaben Befunde wie sie für unbehandelte Tiere dieser Spezies charakteristisch sind. Unter Sensibilisierung mit normalem Nierengesamtextrakt bzw. mit dem Homogenat eines Hypernephroms konnte eine deutliche Hypalbuminämie mit relativer Zunahme der β_1- und γ-Globulinfraktionen und später auch der α-Globuline beobachtet werden. Nach einem injektionsfreien Intervall von acht Monaten normalisierten sich die Befunde weitgehend, um nach einer neuerlichen Antigenapplikation wieder zu einer Dysproteinämie, jetzt aber mit wesentlich stärkerer Hypalbuminämie und relativer Zunahme diesmal vorwiegend der α_1- und α_2-Globuline, zu führen.

Beim Vergleich der Verlaufskontrollen der Serumproteine hinsichtlich ihrer unterschiedlichen Konstellation zwischen dem mit Nieren- und dem mit Hypernephromextrakt behandeltem Kaninchen waren auffällige Abweichungen nicht festzustellen. In diesem Zusammenhang bleibt jedoch zu erwähnen, daß das mit dem Tumor sensibilisierte Tier nach dem behandlungsfreien Intervall keine völlige Normalisierung seiner Serumeiweißkonstellation erkennen ließ und daß außerdem nach der letzten Injektion mit aufberei-

VERHALTEN DER SERUMEIWEISSKÖRPER VOM KANINCHEN UNTER SENSIBILISIERUNG MIT MENSCHLICHEM NIERENPARENCHYMEXTRAKT

		Albumin	Globuline				
			α_1	α_2	β_1	β_2	γ
	Ausgangswerte	56,3	8,8	6,7	12,5	4,0	11,9
I. Injektion	1. Kontrolle (nach 5 Tagen)	49,9	9,4	7,3	11,2	3,9	18,3
	2. Kontrolle (nach 12 Tagen)	50,5	7,7	5,5	10,8	4,3	21,5
II. Injektion	3. Kontrolle (nach 21 Tagen)	47,2	8,1	12,2	11,8	5,3	15,4
III. Injektion	4. Kontrolle (nach 37 Tagen)	45,3	9,6	7,1	13,1	5,5	19,4
	5. Kontrolle (nach 267 Tagen)	59,8	5,4	5,9	6,9	5,4	16,7
IV. Injektion	6. Kontrolle (nach 272 Tagen)	40,9	10,0	10,3	15,9	7,0	15,9

Tab. 1

tetem Tumor es zwar wieder zu einem deutlichen Absinken der Albumine mit Zunahme der α-Fraktionen nicht aber zu einer Veränderung der relativen γ-Globulinkonzentration kam. Die relativen Prozente der γ-Globuline lagen sogar erheblich unter dem Ausgangswert.

VERHALTEN DER SERUMEIWEISSKÖRRER VOM KANINCHEN UNTER SENSIBILISIERUNG MIT MENSCHLICHEM HYPERNEPHROMEXTRAKT

		Albumin	Globuline				
			α_1	α_2	β_1	β_2	γ
	Ausgangswerte	56,7	6,6	5,4	9,0	3,0	19,4
I. Injektion							
	1. Kontrolle (nach 5 Tagen)	43,0	8,9	9,4	12,6	5,1	21,0
	2. Kontrolle (nach 12 Tagen)	48,4	8,7	7,0	11,7	4,9	19,2
II. Injektion							
	3. Kontrolle (nach 21 Tagen)	50,1	8,7	7,4	12,0	4,8	17,0
III. Injektion							
	4. Kontrolle (nach 37 Tagen)	44,5	7,2	6,2	10,5	5,3	26,3
	5. Kontrolle (nach 267 Tagen)	52,2	6,3	7,8	9,0	4,7	20,0
IV. Injektion							
	6. Kontrolle (nach 272 Tagen)	47,8	8,2	8,2	15,4	6,0	14,3

Tab. 2

D I S K U S S I O N

Über Analysen zur Aufklärung des Protein- und Fermentmusters von Nierenextrakten wurden sowohl aus dem eigenen Arbeitskreis (4) als auch von anderen Autoren (1, 9, 13, 31) berichtet.

Die hier vorliegenden biochemischen Ergebnisse der im Agargel getrennten und nachfolgend mit speziellen Farb- und Fermentreaktionen charakterisierten Extrakte normalen Nierengewebes und von Hypernephromen haben gezeigt, daß das Malignom gegenüber seiner nicht maligne entarteten Matrix insgesamt weniger Komponenten und einen kürzeren Trennbereich aufweist. Insbesonder fehlen beim Trennergebnis des P r o t e i n g e m i s c h e s im Tumorextrakt schnell wandernde Albuminvorfraktionen. Die γ-Globuline sind relativ stark vertreten. Ebenso findet man die α_2/ß-Globuline deutlich angereichert. Als Besonderheit erscheint eine Komponente im $ß_2$- bzw. γ_1-Bereich, die durch ihre scharfe und schmalbasige Abgrenzung gekennzeichnet ist. Sie war in sämtlichen Analysen einwandfrei reproduzierbar.

Es erhebt sich nun die Frage, ob die beschriebene Fraktion einem tumorspezifischem Protein gleichkommt. In der einschlägigen Literatur (11, 17) finden sich Hinweise dafür, daß tatsächlich eine im $ß_2$/γ-Globulinbereich gelegene Komponente eine Besonderheit in Extrakten von Neoplasmen darstellt. Dies konnte vor allem mit immunologischen Methoden bewiesen werden. Unter den weiteren Protein- und Fermenteigenschaften der ver-

glichenen Extrakte imponierten u. a. die relative Verminderung der Esteraseaktivitäten im Tumor, die sich durch das Fehlen von fermentaktiven Komponenten im Präalbuminbereich als auch teilweise im α_2/ß-Bereich auszeichnete.

Das Ergebnis der Peroxydasefärbung zeigte ein ähnliches Verhalten, wobei allerdings der α/ß-Bereich des Hypernephromextraktes bei einigen Analysen eine stärkere Aktivität als der des normalen Nierengewebes aufwies.

Unter den dargestellten Fermenten zeigte die Laktatdehydrogenase ein auffallend diskrepantes Ergebnis: Während bei den Analysen mit normalem Nierengewebe vier sichere LDH-aktive Komponenten nachweisbar wurden, unter denen vor allem die LDH-I und die LDH-II durch ihre Intensität hervortraten, ließen sich im Hypernephromextrakt allenfalls drei schwach anfärbbare LDH-aktive Fraktionen nachweisen, unter welchen eine Komponente in Position der LDH-IV bzw. LDH-V deutlicher in Erscheinung trat. Quantitativ war die Gesamtaktivität der LDH im Tumor wesentlich niedriger als im normalen Nierengewebe, eine Beobachtung, die zunächst im Widerspruch zu der Tatsache steht, daß Malignome im allgemeinen eine höhere LDH-Aktivität aufweisen als das normale Muttergewebe. Die geringere LDH-Konzentration im Tumor steht jedoch im Einklang mit den Beobachtungen von RICHTERICH et al. (17), die ebenfalls bei einem Hypernephrom eine um die Hälfte der Norm reduzierte LDH-Aktivität fanden. In bezug auf die Isoenzymverteilung in den verglichenen Ge-

websextrakten war außerdem aufgefallen, daß mit Hypernephromextrakten im kathodischen Bereich quasi nur noch eine LDH-aktive Fraktion darzustellen war. Wie aus dem neueren Schrifttum hervorgeht, dürfte es sich bei den hier beschriebenen Veränderungen in Richtung einer Uniformierung und Reduzierung fermentaktiver Zonen analog zu den hinlänglich bekannten histologischen Umwandlungen bei malignen Entartungen um den Ausdruck einer Entdifferenzierung des Enzymsystems mit Konzentration auf den γ-Bereich, somit also auf die LDH-V, handeln. Damit wäre zugleich ein weiterer Beweis für die anaerobe Stoffwechsellage des Karzinoms erbracht (38).
Frühere Untersuchungen (26), bei welchen vor allem die Anreicherung der LDH-III als tumorspezifisches Kriterium angesehen wurde, stehen somit nicht in völligem Einklang mit den hier vorliegenden Ergebnissen.
Es erhebt sich nunmehr die Frage, ob in Abhängigkeit von der Entdifferenzierung des malignen Gewebes auch die Enzymnatur der Laktatdehydrogenase einen Wandel erfahren kann. Dazu ist wohl zu sagen, daß möglicherweise metaplastische bzw. als Präkanzerosen bezeichnete Gewebsformationen in der Lage sind, einen LDH-III-Typ zu entwickeln, der dann für die Existenz eines nur teilweisen anaeroben Stoffwechsels spräche.
Somit würde gewissermaßen der Typenwandel des jeweils hervorstechendsten Isoenzyms Rückschlüsse auf die maligne Entartungsstufe eines neoplastischen Gewebes zulassen.
Ein differentialdiagnostischer Hinweis bei der Unterscheidung zwischen den Isoenzymmustern vom "Lebertyp" normaler Gewebs-

extrakte und dem hier beschriebenen "Tumortyp" kann darin gesehen werden, daß im pathologisch nicht veränderten Gewebe sämtliche Komponenten in entsprechendem Isoenzymverteilungsmuster einwandfrei darstellbar und lediglich durch ihre Relationsunterschiede charakterisiert sind, während der "Tumortyp" praktisch nur ein LDH-Isoenzym - die LDH-V im γ-Globulinbereich - aufweist; die übrigen Isoenzyme jedoch, falls sie sich bei den Analysen überhaupt darstellen, sind demgegenüber als Spuren von Verunreinigungen, Blutbeimengungen, Bindegewebsresten oder Residuen des normalen Muttergewebes aufzufassen. Mit anderen Worten, die Tumor-LDH läßt sich ohne weiteres durch ihr reduziertes Fermentmuster mit Konzentrierung auf die LDH-V in jedem Falle von anderen Typen abgrenzen.

Die mit i m m u n o l o g i s c h e n Methoden erzielten Untersuchungsergebnisse zeigten, daß sich das Tumorgewebe von normalem Nierenparenchym vor allem durch eine geringere Anzahl antigener Komponenten auszeichnet. Dieser Antigenverlust würde mit der bereits erwähnten Entdifferenzierungstendenz maligner Gewebe im Einklang stehen. Die speziell mit der immunoelektrophoretischen Auftrennung gewonnenen Ergebnisse ließen weiterhin erkennen, daß der Hypernephromextrakt sowohl mit dem Nierenextrakt als auch mit einem Humanserum eine Reihe determinanter Gruppen oder sogar komplette Eiweißsysteme gemeinsam besitzt, auch wenn die Proteinkomposition von Nierenparenchym, Hypernephrom und Humanserum eine unterschiedliche ist.

Die A b s o r p t i o n s v e r s u c h e schließlich brachten insofern eine Überraschung, als hierbei keine organ- bzw. tumorspezifische Komponenten dargestellt werden konnten. Insbesondere gilt diese Feststellung für den Proteinkomplex des entarteten Tumors, bei welchem sich ein etwa autoantigen wirksamer Faktor nicht eruieren ließ. Dies findet auch in vivo praktisch seine Bestätigung in der Tatsache, daß autochthones Karzinomgewebe hinsichtlich immunologischer Abwehrmechanismen vom Trägerindividuum toleriert wird. In wieweit dennoch einem γ-Globulin aus Tumorextrakten eine malignomspezifische Bedeutung beigemessen werden kann, wie dies übrigens auch von anderen Autoren (17) diskutiert wurde, kann deshalb vorerst ohne gewisse Vorbehalte nicht bestätigt werden.

Die beschriebenen Veränderungen der S e r u m e i w e i ß - k ö r p e r , der mit den verschiedenen Extrakten behandelten Kaninchen stellen eine Bestätigung früherer unter Sensibilisierung mit Eiweißantigenen gewonnenen Befunde eigener Untersuchungen und der anderer Autoren dar. In diesem Zusammenhang finden sich auch Hinweise dafür, daß der antigene Effekt in bezug auf die Aktivität des Mesenchyms, d. h. die Antikörperproduktion, mit Tumorhomogenaten offenbar wirkungsvoller ist als mit Extrakten normaler Organe.

Z U S A M M E N F A S S U N G

Es wurden die Extrakte von histologisch gesichterten Hypernephrompräparaten und die normalen Nierengewebes hinsichtlich ihrer agarelektrophoretisch differenzierbaren und biochemisch charakterisierbaren Proteinkomponenten und Fermentaktivitäten verglichen. Darüberhinaus erfolgte mit immunologischen Methoden unter Verwendung spezifischer Antiseren eine Analyse dieser Extrakte im Hinblick auf ihre antigenen Eigenschaften. Es konnte dabei festgestellt werden, daß die Hypernephromextrakte im Vergleich zu den Extrakten aus dem jeweils umgebenden normalen Nierenparenchym einen Protein- und zugleich Antigenverlust aufwiesen und daß ferner größere Unterschiedlichkeiten im Verteilungsmuster verschiedener Fermente, insbesondere der Laktatdehydrogenase, in Erscheinung traten.

Aufgrund der hier erzielten Untersuchungsergebnisse sind jedoch immunologische Differenzierungsmöglichkeiten augenblicklich nur durch die quantitative und relative Verteilung der verschiedenen Präzipitationsmuster nicht aber in bezug auf ein qualitativ-objektivierbares Malignitätskriterium gewonnen worden.

L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

1) BAO-LINH, D., G. HERMANN und P. GRABAR:
Ann. Inst. Pasteur, 106, 670 (1964)

2) GÖTZ, H., G. BERG und F. SCHEIFFARTH:
Methodische Grundlagen der Immunoelektrophorese.
Z. Immun. Forsch. 114, 72-84 (1957)

3) GÖTZ, H. und F. SCHEIFFARTH:
Immunoelektrophoretische Untersuchungen an Organextrakten.
Klin. Wschr. 41, 587 (1963)

4) GÖTZ, H., F. SCHEIFFARTH und N. AL-SAFFAR:
Weitere agarelektrophoretische Studien an menschlichen Organextrakten.
Med. exp. 10, 27-33 (1964)

5) GÖTZ, H., F. SCHEIFFARTH und D. HOFFMANN:
Diastasenachweis in einigen menschlichen Organextrakten mit Hilfe der Elektrophorese im Agargel.
Z. Gastroenterologie 2/2, 76-78 (1964)

6) GÖTZ, H., F. SCHEIFFARTH und H. KUNSEL:
Untersuchungen der Extrakte normalen Leberparenchyms und eines primär in der Leber entstandenen Tumors.
(Arbeit im Druck)

7) GRABAR, P.:

Études sur les protéines àl l'aide de méthodes immunochimiques.
Bull. Soc. Chim. biol. 36, 65 (1954)

8) GRABAR, P. et P. BURTIN:

a) Analyse immuno-électrophorétique.
Application avec liquides bioloques humains.
Masson u. Cie., Paris 1960

b) Immunoelektrophoretische Analyse.
Elsevier Publ. Comp. Amsterdam 1964

9) GRABAR, P. et C. A. WILLIAMS:

a) Méthodes permettant l'éthude conjugée des propriétés électrophorétiques et immuno-chimiques d'un mélange de protéins, application au sérum sanguin.
Biochim. biophys. Acta 10, 193-194 (1953)

b) Méthode immuno-électrophorétique d'analyse de mélange de substances antigéniques.
Biochim. biophys. Acta 17, 67 (1955)

10) GRASSMANN, W., K. HANNIG und M. KNEDEL:

Über ein Verfahren zur elektrophoretischen Bestimmung der Serumproteine auf Filterpapier.
Dtsch. med. Wschr. 76, 333 (1951)

11) GUERRITORE, D., P. P. GAZZANIGA, M. LIPARI and F. SONNINO:

Immunoelectrophoretic Pattern of a Spontaneous Transplantable Tumor of the Rat.
Oncologia 19, 453 (1965)

12) HEINKEL, K., H. GÖTZ, F. SCHEIFFARTH und J. DUDEK:

Der Nachweis amylaseaktiver Komponenten in Proteingemischen mit der Stärke - Agargel - Elektrophorese.
Z. Gastroenterologie 3/3, 154 (1965)

13) HERMANN, G. und CH. DE VAUX ST. CYR:

Les protéins urinaires provenant du tissu rénal.
In H. PEETERS: "Protides of the Biological Fluids".
(Proceedings of the 11th Colloquium, Bruges 1963)
Elsevier Publishing Co.
Amsterdam - London - New York, 494-498 (1964)

14) OUCHTERLONY, Ö.:

Antigen antibody reactions in gels.
Acta path. microbiol. scand. 26, 507 (1949)

15) PÉREZ-MIRANDA, M.:

Antigenos y Autoanticuerpos renales humanos.
Dissertation 1966
Universitas Pamplona

16) PFLEIDERER, G. und E. D. WACHSMUTH:

Alters- und funktionsabhängige Differenzierung der LDH menschlicher Organe.
Biochem. Z. 334, 185 (1961)

17) RICHTERICH, R. und A. BURGER:

Lactic dehydrogenase isoenzymes in human cancer cells and malignant effusions.
Enzymol. biol. clin. 3, 65 (1963)

18) SCHEIFFARTH, F. und H. GÖTZ:

Eine Methode zum Diastasenachweis agarelektrophoretisch getrennter Proteingemische.
Klin. Wschr. 42, 130 (1964)

19) SCHEIFFARTH, F., H. GÖTZ und F. CZAGANY:

Zur quantitativen Bestimmung der Coeruloplasminkonzentration im Serum.
Med. Welt 28, 1449 (1961)

20) SCHEIFFARTH, F., H. GÖTZ und R. FUNKE:

Vergleichende biochemische und immunologische Untersuchungen an normaler Magenschleimhaut und Magencarcinom.
(Arbeit im Druck)

21) SCHEIFFARTH, F., H. GÖTZ und G. GOGOLKA:

Vergleichende biochemische und immunologische Untersuchungen mit Extrakten aus Mammagewebe und Mammacarcinom.
(Arbeit im Druck)

22) SCHEIFFARTH, F., H. GÖTZ und W. SCHRAMM:

Vergleichende Studien an Proteinextrakten normaler Rektumschleimhaut und Adenocarcinom.

23) SCHEIFFARTH, F., H. WARNATZ und H. GÖTZ:

Zum qualitativen und quantitativen Nachweis der alkalischen Phosphatase im Serum mit Hilfe der Agarelektrophorese.
Med. Welt 43, 2216 (1961)

24) SCHWENKE, K. D.:

Vergleichende Untersuchungen löslicher Organproteine aus Tumor- und Normalgeweben mit Hilfe der freien Elektrophorese.
Z. Krebsforsch. 68, 112 (1966)

25) SCHWENKE, K. D., P. PLASS und M. KUJAWA:

Fraktionierung löslicher Organproteine aus Tumor- und Normalgeweben des Goldhamsters mit Hilfe der Stärkegel-Elektrophorese und Ultrazentrifugation.
Z. Krebsforsch. 68, 234 (1966)

26) STARKWEATHER, W. H. and H. K. SCHOCH:

Some observations on the lactatdehydrogenase of human neoplastic tissue.
Biochem. biophys. Acta 62, 440 (1962)

27) URIEL, J.:

Étude de l'activité enzymatique de la céruloplasmine du sérum humain aprés électrophorése en gélose.
Bull. Soc. Chim. biol. 39, Suppl. I, 1o5 (1957)

28) URIEL, J. et P. GRABAR:

Emploi de colorants dans l'analyse électrophorétique en milieu gélifié.
Ann. Inst. Pasteur 90, 429 (1956)

29) URIEL, J., P. GRABAR et CH. WUNDERLY:

Étude d'un sérum de macroglobulinémie par ultracentrifugation.
Clin. chim. Acta 2, 35-42 (1957)

30) VAN DER HELM, H. J.:

A simplified method of demonstrating lactic dehydrogenase isoenzymes in serum.
Clin. chim. Acta 7, 124 (1962)

31) VAUX ST. CYR, CH. DE, G. HERMANN und N. TALAL:

Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med., 68, 535 (1962)

32) WILLIAMS, C. A. and P. GRABAR:

Immunoelectrophoretic studies on serum proteins
I. The antigens of human serum.
J. Immunol. 74, 158 (1955)

33) WARBURG, O., K. GAWEHN, A. W. GEISSLER, D. KAYSER und S. LORENZ:

Experimente zur Anaerobiose der Krebszellen
Klin. Wschr. 43, 289 (1965)

An dieser Stelle möchte ich mir erlauben, Herrn Prof. Dr. F. Scheiffarth für die freundliche Überlassung des Themas sowie die Übernahme des Referates und nicht zuletzt Fräulein Dr. H. Götz für ihre wertvolle Anleitung und liebenswürdige Hilfe bei allen sich ergebenden Fragen meinen aufrichtigen Dank auszusprechen.

L e b e n s l a u f

Am 14. Dezember 1935 wurde ich als Sohn des Maschinenbauingenieurs Kurt Kahlert und seiner Frau Charlotte K. in Chemnitz geboren.

Nach dem Abgang von der Volksschule im Jahre 1950 besuchte ich die Oberschule meines Heimatortes. Nach bestandener Reifeprüfung übersiedelte ich 1955 zusammen mit meinen Eltern nach Westdeutschland, wo ich zunächst die Ergänzungsprüfung zum mitteldeutschen Abitur im Lande Nordrhein-Westfalen abzulegen hatte.

Im Sommer 1956 begann ich schließlich das Studium der Medizin an der Universität Tübingen. Nach einer halbjährigen Unterbrechung durch einen Aufenthalt in England kehrte ich nach Tübingen zurück, wo ich im Frühjahr 1959 die ärztliche Vorprüfung ablegte.

Nach zwei klinischen Semestern in Wien setzte ich im Winter 1960/61 in Erlangen mein Medizinstudium fort, das ich im August 1962 mit dem Staatsexamen erfolgreich beenden konnte.

Als Medizinalassistent arbeitete ich sodann auf der internen und später der chirurgischen Abteilung des Waldkrankenhauses St. Marien in Erlangen sowie auf der geburtshilflich-gynäkologischen Station des Städtischen

Krankenhauses in Weiden.

Meine weitere Ausbildung erhielt ich in einer chirurgisch orientierten Landpraxis, von der aus ein Belegkrankenhaus sowie ein Siechenheim ärztlich mit betreut wurden. Später oblag mir gelegentlich die Vertretung des ärztlichen Leiters.

Seit meiner Bestallung als Arzt im Oktober 1965 war ich vertretungweise im vertrauensärztlichen Dienst der Landesversicherungsanstalt Oberfranken und Mittelfranken tätig. Von Zeit zu Zeit nahm ich jedoch die Gelegenheit wahr, vertretungen in Stadt- und Landpraxen zu übernehmen.

Nach erfolgter Promotion gedenke ich, an das Städtische Krankenhaus Weiden zurückzukehren, um an der dortigen Kinderabteilung eine Stelle als Assistenzarzt zu übernehmen.

Nürnberg, im Dezember 1966

BUCH- UND FOTODRUCK
LUDWIG MÖLLER
ERLANGEN · FAHRSTR. 5